



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *ZINGIBER OFFICINALE* SOBRE CEPAS DE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 25923 COMPARADO CON
CIPROFLOXACINO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR

María del Rosario Calle Aguilar

ASESORES

Dra. Evelyn Goicochea Ríos

Dr. Steve Tony Hurtado Escamilo

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

TRUJILLO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

*A Dios por haberme permitido tener la oportunidad de poder cumplir
mi sueño postergado, por haber puesto en mi camino a
personas que han iluminado mi sendero
y por haberme enseñado el Amor
al Prójimo que es la base de
mi carrera.*

*Dedico la presente Tesis a mi querido hermano **Miguel Eduardo**
quien a pesar de existir miles de kilómetros de distancia
siempre confió en mi perseverancia, quien con sus
consejos, aliento y amor, hicieron posible
la culminación de mis estudios
profesionales.*

*A mis padres **Sabita y Hermilio**, mis hermanos **Mark y Juan**.
Para mí no ha sido sencilla esta travesía pero el tenerlos
cerca ha sido una bendición para poder decir ahora
“La meta ha sido cumplida”*

*A mis hijos **Rodrigo y Fernando** que son el motor y motivo de mi vida.
Quienes mediante su amor y comprensión hicieron posible
todo el esfuerzo y dedicación durante todos estos
años de estudios y ausencia en casa.*

AGRADECIMIENTOS

A mis hijos **Rodrigo y Fernando** que son mi primer y último pensamiento del día, gracias por comprenderme y estar conmigo en los buenos y no tan buenos momentos.

A mis **padres y hermanos** por su comprensión consejos y apoyo incondicional durante todos estos años de dedicación y esfuerzo.

A toda mi **familia** en general, por hacerme sentir que se sienten orgullosos de mis logros y que saben que siempre estaré para ellos.

A cada uno de mis **docentes** quienes día a día se preocuparon en nutrirme de conocimiento para ser una buena profesional; muchos de ellos se han convertido para mí, en un ejemplo a seguir por la dedicación para con sus pacientes sin importarles el día ni la hora. !!!Gracias maestros!!!

A mis **tutores** de Tesis Dra. Evelyn Goicochea, Dr. Steve Escamilo y Dr. Alfredo Gonzales quienes me asesoraron y estuvieron presentes durante el desarrollo de la tesis.

A mis **compañeros** a quienes aprendí a querer, a respetar y compartí la hermosa vida universitaria, siempre los recordaré, con mucho cariño y les deseo todo lo mejor en su vida profesional y siempre serán” Mis chicos”.

A todo el **personal administrativo** que siempre estuvo presto a ayudarme en todas las gestiones que se solicitaron. Muchas gracias.

A mi **Universidad “Cesar Vallejo”**, por haberme permitido formarme en sus aulas donde compartí momentos inolvidables entre clases, exámenes, exposiciones y buenos momentos con mis compañeros.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, **MARÍA DEL ROSARIO CALLE AGUILAR** con DNI 18110986, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina, cumpliendo con el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad, declaro que el contenido de la Tesis titulada **“Efecto antibacteriano *In vitro* del extracto etanólico de *Zingiber officinale* “jengibre” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Ciprofloxacino”**.

1. Son de mi autoría y ha sido revisada en el sistema Turnitin.
2. Así mismo, dejo constancia de que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo, por lo que no se ha asumido como propias las ideas vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos como en Internet.

Por lo que asumo la responsabilidad legal y administrativa en caso de que esta declaración jurada no se ajustará a la verdad la cual está dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 28 de Noviembre del 2018.

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

Cumpliendo el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **“Efecto antibacteriano *In vitro* del extracto etanólico de *Zingiber officinale* “jengibre” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Ciprofloxacino”**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

La Autora.

INDICE

PÁGINAS PRELIMINARES

Página del Jurado	1
Dedicatoria	2
Agradecimiento	3
Declaratoria de autenticidad.....	4
Presentación	5
Índice.....	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
I. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. Realidad problemática.....	9
1.2. Trabajos previos	10
1.3. Teorías relacionadas al tema	13
1.4. Formulación del problema	17
1.5. Justificación del estudio.....	17
1.6. Hipótesis.....	18
1.7. Objetivos	18
II. METODO.....	19
2.1. Diseño de investigación.....	19
2.2. Variables, operacionalización.....	20
2.3. Población y muestra	21
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	22
2.5. Métodos de análisis de datos	23
2.6. Aspectos éticos	23
III. RESULTADOS.....	23
IV. DISCUSIÓN	26
V. CONCLUSIONES	29
VI. RECOMENDACIONES.....	30
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
VIII. ANEXOS.....	37

RESUMEN

Se evaluó la actividad antibacteriana In vitro del extracto etanólico de *Zingiber officinale* contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mediante un estudio experimental con pos prueba, se utilizó el método de disco difusión, considerando al ciprofloxacino y DMSO como control positivo y negativo respectivamente. Se realizaron 16 repeticiones para cada una de las 4 concentraciones de jengibre: 100%; 75%; 50% y 25%. Se valoró la eficacia antibacteriana tomando en cuenta los puntos de corte del CLSI. Los resultados mostraron que el extracto etanólico de jengibre tuvo efecto antibacteriano contra *S. aureus*, observando halos de inhibición de 17.75 ± 1.13 mm al 100%, 13.63 ± 1.2 mm al 75%, 11 ± 0.82 mm al 50% y 0.0 ± 0.0 mm al 25%. Se observó que existe diferencias significativas ($p=0.000$) entre los grupos analizados, según la prueba de Kruskal-Wallis. A pesar que se observó actividad antibacteriana, los valores de los halos de inhibición obtenidos son menores al punto de corte (21 mm) del CLSI, para ser considerada a la bacteria como sensible al extracto etanólico de jengibre. Se concluye que el extracto etanólico de *Zingiber officinale* tiene mayor efecto antibacteriano In vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a medida que aumenta la concentración y no demostró tener igual o mayor efecto antibacteriano que el Ciprofloxacino.

Palabras clave: *Zingiber officinale*, *Staphylococcus aureus*, actividad antibacteriana

ABSTRACT

The antibacterial activity In vitro of the ethanolic extract of *Zingiber officinalis* against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was evaluated, for which an experimental study was designed with post-test only, and proceeded using the disk-diffusion method, considering ciprofloxacin and DMSO as positive control and negative respectively. 16 repetitions were made for each of the 4 concentrations of ginger: 100%; 75%; 50% and 25%. Antibacterial efficacy was assessed taking into account the CLSI breakpoints. The results showed that the ethanolic extract of ginger had antibacterial effect against *S. aureus*, observing halos of inhibition of 17.75 ± 1.13 mm at 100%, 13.63 ± 1.2 mm at 75%, 11 ± 0.82 mm at 50% and 0.0 ± 0.0 mm to 25%. It was observed that there are significant differences ($p=0.000$) between the groups analyzed, according to the Kruskal-Wallis test. Although antibacterial activity was observed, the values of the inhibition halos obtained are lower than the breakpoint (21 mm) of the CLSI, to be considered as sensitive to the ethanolic extract of ginger. It is concluded that the ethanolic extract of *Zingiber officinale* has a greater antibacterial In vitro effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 as the concentration increases and did not show an equal or greater antibacterial effect than ciprofloxacin.

Key words: *Zingiber officinale*, *Staphylococcus aureus*, antibacterial activity.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Realidad Problemática

Las enfermedades infecciosas han generado desde tiempos remotos diferentes problemas sanitarios en la sociedad. La Organización Mundial de la Salud, ubica a las enfermedades infecciosas como la principal causa de defunción en las naciones de ingresos bajos (más del 52% de defunciones registradas para el año 2015), pero en las naciones de ingresos medianos y altos se encuentra como la cuarta causa de defunción.¹

Staphylococcus aureus es una bacteria oportunista que está dentro de la micro flora humana. Después del nacimiento, el ser humano es colonizado por este patógeno. Entre el 20 y 50% de la población mundial la porta en fosas nasales y 30% de forma permanente en piel y tracto gastrointestinal. Las principales enfermedades que produce son múltiples infecciones e intoxicaciones, llegando a comprometer cualquier órgano generando problemas leves a nivel tegumentario como foliculitis, impétigo hasta cuadros mortales como neumonía necrotizante, osteomielitis, bacteriemia y sepsis. El advenimiento de cepas de *S. aureus* con resistencia a meticilina (SAMR) y vancomicina (VRSA), es una preocupación en el ambiente nosocomial debido al incremento de la mortalidad, mayor tiempo de hospitalización y costos elevados, en comparación con *Staphylococcus aureus* sin resistencia.²

La resistencia a los fármacos de primera línea para tratar las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*, una causa común de infecciones graves en los nosocomios de la comunidad está muy extendida. Se calcula que el grupo de pacientes que tiene una infección por *Staphylococcus aureus* con resistencia a meticilina tienen una probabilidad de 64% mayor de fallecer en comparación de aquellos infectados por una cepa no resistente a meticilina.³

El *Zingiber officinale* (jengibre) ha sido comúnmente utilizado por diferentes culturas gracias a su amplio rango de acción antimicrobiano sobre microorganismos como bacterias Gram Positivas y Negativas. Estudios in vitro han demostrado que el rizoma del *Zingiber officinale*, posee en su estructura química diversos componentes dentro de los cuales algunos como el gingerol, 6 Dehidroshogaol, 6-shogaol y 1-deshidro-6-gingerdiona tienen efecto antioxidante, lo cual genera un equilibrio del sistema de defensa de nuestro cuerpo. Así mismo el jengibre ha demostrado propiedades antiinflamatorias al inhibir diferentes citoquinas como la IL -1 y TNF.⁴

1.2 Trabajos previos

Yassen D et al⁵ (Iraq, 2016) determinaron el efecto inhibitorio sobre *Echerichia coli* y *Staphylococcus aureus* del extracto etanólico de rizoma de *Zingiber officinale* a diferentes concentraciones (1000 mg/ml, 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62.5 mg/ml). Los halos de inhibición, identificaron para *E. coli* un halo de 16 mm a una concentración de 1000 mg/ml y para *S. aureus* un halo de 13 mm a una concentración de 500 mg/ml.

Riaz H et al⁶ (Pakistan, 2015) estudiaron la actividad antimicrobiana del rizoma de *Zingiber officinale* mediante la técnica de difusión en discos de agar sobre múltiples patógenos. Los resultados encontrados para *S. aureus* fue un halo de 19 mm, para *E. coli* un halo de 17 mm, para *Bacillus subtilis* un halo de 16 mm y para *Aspergillus niger* un halo de 20 mm. Mediante este estudio se identificaron que diversas cepas bacterianas tienen diferentes sensibilidades hacia el extracto de jengibre. Hoy en día, la mayoría de los organismos patógenos se están volviendo resistentes a los antibióticos, ante dicha situación exige a la sociedad científica el estudio de nuevos agentes antimicrobianos.

Khazal N et al⁷ (Iraq, 2014) identificaron el efecto antimicrobiano del rizoma de *Z. officinale* a diferentes concentraciones de extracto etanólico a través de la técnica de difusión en placas de agar, encontrando un halo de 15 mm,

para *Staphylococcus aureus*, y *Salmonella typhi* de 10 mm. mostrando que el extracto de jengibre fresco exhibió fuerte actividad antibacteriana seguida por la actividad de extracto acuático de jengibre.

Al-Daihan S et al⁸ (Arabia Saudita, 2013) identificaron el efecto antibacteriano de diferentes plantas, entre ellos el *Zingiber officinale* a diferentes concentraciones mediante el método de difusión en discos de agar. Hallando para *Staphylococcus aureus* un halo 12 mm ± 0.33 , para *Escherichia coli* 13 mm ± 0.33 , para *S. pyogenes* 12 mm ± 0.20 .

Ali H et al⁹ (Iraq, 2012) estudió el efecto antibacteriano de *Zingiber officinale* sobre patógenos gram positivos y gram negativos a diferentes concentraciones (50 mg/ml, 25 mg/ml, 12.5 mg/ml, 6.35 mg/ml), a través del método de difusión en discos de agar. Se identificaron halos de inhibición para *Staphylococcus aureus* de 16.5 mm a una concentración de 50mg/ml, para *Echerichia coli* de 15 mm a una concentración de 25 mg/ml.

Iram G et al¹⁰ (Pakistán, 2012) determinaron la acción antimicrobiana del extracto etanólico de jengibre (*Zingiber Officinale*) sobre patógenos Gram positivos y Gram negativos, por la técnica de difusión en placas de agar. Los resultados encontrados para *E. coli* fue un halo de 15 mm ± 0.47 , para *P. aeruginosa* un halo de 14 mm ± 0.94 , para *S. aureus* un halo de 13 mm ± 0 , y para *K. pneumoniae* un halo de 11 mm ± 0 .

Karuppiah P et al¹¹ (India, 2012) identificaron la actividad antibacteriana del rizoma de *Zingiber officinale* a diferentes concentraciones mediante la técnica de difusión en discos de agar sobre patógenos Gram negativos. Encontrando una halo de inhibición para *Escherichia coli* de 15.50 mm ± 0.30 , para *Enterobacter sp.* 5.50 mm ± 0.40 , para *Klebsiella sp* de 7.50 mm ± 0.50 , y para *Staphylococcus aureus* un halo de 13.55 mm ± 0.20 .

Azu N et al¹² (Nigeria, 2006) Investigaron la actividad antibacteriana de extractos crudos y acuosos de *Zingiber officinale* (jengibre) contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, (de hisopado vaginal

alto). Utilizaron el método de difusión. El resultado mostró que el extracto etanólico de jengibre proporcionó la zona de inhibición más amplia (20mm) contra *S. aureus* a una concentración de 0,8 gml⁻¹. Concluyeron que, el jengibre, tenía actividad antibacteriana en los dos organismos de prueba, lo que confirma su uso en la medicina popular.

Pelaez L et al¹³ (Perú, 2016) determinaron el efecto del extracto etanólico de los rizomas del jengibre, se realizaron sobre el crecimiento de cepas patógenas del *Streptococcus pyogenes*, utilizando el método de agar Kirby Bauer la concentración del jengibre fue de 13,29 mg de extracto seco. Observando que el Extracto etanólico si posee un efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus pyogenes*.

Uribe AS¹⁴ (Perú, 2017) en su trabajo de investigación, determinó la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Zingiber officinale* “Jengibre” mediante los métodos de Macrodilución y Difusión en agar. Utilizó 3 cepas bacterianas, entre ellas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los resultados mostraron que, frente a *Staphylococcus aureus*, el extracto etanólico de *Zingiber officinale* procedente de Lamas presentó un halo de inhibición de 9.3 ± 0.6 mm y 8.7 ± 1.2 mm a la concentración de 12mg/ml y 6mg/ml respectivamente; mientras que, para el procedente de Iquitos, a concentración 12mg/ml tuvo un halo de inhibición 10.7 ± 1.2 mm y a concentración 6mg/ml presento un halo 9.0 ± 1.0 mm. Concluyó que el extracto etanólico de *Zingiber officinale*, presenta actividad antibacteriana a las concentraciones de 6 y 12mg/ml contra *S. aureus* y no presenta contra las otras bacterias en estudio.

1.3 Teorías relacionadas al tema

Los estafilococos son bacterias Gram positivas esféricas de 1µm de diámetro, distribuidos en forma de racimos irregulares que son semejantes a las uvas. Fermentan hidratos de carbono y producen ciertos pigmentos que pueden tener desde una coloración blanquecina hasta una pigmentación amarillenta. Los estafilococos patógenos producen hemólisis,

coagulación plasmática, enzimas y toxinas (catalasa), capaces de transformar el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno. Resisten la desecación del calor y al NaCl, pero se inhibe mediante hexaclorofeno a 3%. No poseen motilidad y no forman esporas, multiplicándose con facilidad en todos los medios bacteriológicos. El agar Muller Hinton es un medio idóneo para aislar el *Staphylococcus aureus*, basado en la tolerancia que posee a una alta concentración de NaCl. Crecen en condiciones aerobias o micro-aerofilicas; y su crecimiento se da con mayor rapidez a 37°C produciendo colonias de color gris-amarillo o dorado.¹⁵

Existen por lo menos 40 especies de *Staphylococcus*, pero los de mayor relevancia clínica y epidemiológica son: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*. El *Staphylococcus aureus* se distingue de otras especies por su propiedad de ser coagulasa-positivo, contiene distintos glúcidos como los polisacáridos y proteínas con propiedad antigénica, así como otras sustancias de importancia estructural dentro de su pared celular. La proteína A es una proteína de la superficie bacteriana que tiene la característica de ser una adhesina.¹⁶

Tiene la capacidad de generar mayor daño a los tejidos a través de sus propiedades de multiplicación y amplia diseminación en los distintos tejidos, y por la producción de distintas sustancias extracelulares; generan coagulasa, una enzima que coagula el plasma; esta proteína se une a la protrombina; y en conjunto pueden transformarse enzimáticamente e iniciar la polimerización de fibrina. Otras proteínas producidas por *S. aureus* incluyen a hialuronidasa y estafilocinasa que genera fibrinólisis con acción más lenta que la estreptocinasa, y las proteinasas, lipasas y β -lactamasas.¹⁷

Staphylococcus aureus forma parte de la microbiota humana, cuando logra proliferar a otros tejidos como por ejemplo el aparato tegumentario o el aparato respiratorio así también tiene la capacidad de producir toxinas con efecto local y sistémico logra generar diversas enfermedades; por ello este patógeno es uno de los más virulentos en los ambientes nosocomiales.¹⁸

Las infecciones de la piel por *Staphylococcus aureus* están relacionadas al sitio donde se encuentra como son las fosas nasales y flexuras. A pesar de ser inofensivos en la mayoría de los individuos, el *S. aureus* es conocido por causar forúnculos, orzuelos, impétigo entre otras infecciones en los seres humanos. La mayoría de pacientes que desarrollan la enfermedad tiene un cuadro de inmunosupresión, como es el caso de pacientes consumidores de corticoides, diabéticos, infectados con VIH entre otros.¹⁹

Las infecciones más graves, sobre todo en personas debilitadas por una enfermedad crónica son las lesiones traumáticas, quemaduras o inmunosupresión, neumonías necrotizantes, endocarditis, y la osteomielitis. El *Staphylococcus aureus* llega a estos órganos a través del torrente sanguíneo, pero para cada uno de ellos se requieren ciertos factores de riesgo biológicos y demográficos.²⁰

Staphylococcus aureus posee en su superficie proteínas que promueven la unión a las células del huésped tales como laminina y fibronectina que forman parte de la matriz extracelular. Además, la mayoría de las cepas expresan una proteína de unión a fibrina (el factor de aglutinación), que promueve la unión a coágulos de sangre y tejidos lesionados. El receptor que promueve la unión al colágeno está particularmente asociado con cepas que causan la osteomielitis y artritis séptica.²¹

Uno de los medios por los cuales se genera la unión del patógeno con las células de huésped es la proteína A, que se une a la inmunoglobulina G; así mismo la leucocidina, la hemolisina y la coagulasa que son proteínas extracelulares intervienen en la génesis de la patología. La leucocidina es una toxina que actúa sobre los leucocitos polimorfonucleares, la hemolisina lisa los eritrocitos y también es tóxica para los leucocitos. La fagocitosis es una defensa importante contra la infección por estafilococo por la leucocidina.²²

Zingiber officinales es oriundo de Asia. La cultura china considera al jengibre como el “yang”, o alimento picante, la cual equilibra los alimentos fríos o

también llamado el "ying" para generar un equilibrio. El jengibre es conocido en la rama de la medicina alternativa por sus efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antibacterianos, etc. Los nombres botánicos para describir esta planta son: *Zingiber officinale*, *Zingibereaceae rizomo*, *Amomum zingiber L.*, *Zingiber zingiber (L.)*, así mismo los nombres populares más usados son: kion o jengibre.²³

El jengibre pertenece al reino plantae, en la división magnoliophyta de la clase liliopsida en el orden de zingibereales de la familia zingiberaceae en la subfamilia de zingiberoideae del genero zingiber en la especie *Zingiber officinale*. Se utiliza para enfermedades de origen infeccioso y no infeccioso como estados de inmunosupresión y estados de hiperglicemia.²⁴

El jengibre es un tubérculo en forma de mano el cual se denomina rizoma que es una parte esencial de la planta caracterizado por un aroma fuerte; sabor picante, agrio; la coloración de los rizomas es. *Zingiber officinale* posee unas hojas alargadas lanceoladas, oblongadas, parecidas a las del maíz alcanzando una altura de 1 metro. Las flores están dispuestas en forma de espigas.²⁵

El jengibre dentro de su composición fitoquímica tenemos que posee componentes volátiles y no volátiles, dentro de los primeros constituyen el 3% mientras que los componentes no volátiles lo constituyen en 5%, así mismo se han identificado componentes identificados a partir de terpenos los cuales son hidrocarburos, sesquiterpenos y compuestos fenólicos como son el gingeron, zingerone y el paradol en mayor porcentaje.²⁶

La estructura química del rizoma posee componentes dentro de los cuales algunos tienen efecto antioxidante como el gingerol, 6 Dehidroshogaol, 6-shogaol y 1-deshidro-6-gingerdiona que al neutralizar los radicales libres y el estrés oxidativo celular generan un equilibrio del sistema de defensa de nuestro cuerpo. Así mismo el jengibre ha demostrado propiedades antiinflamatorias al inhibir diferentes citoquinas.²⁷

El extracto etanólico de *Zingiber officinale* presenta más de 30 compuestos fitoquímicos, entre los que se encuentran alcaloides, esteroides, flobotaninos, flavanoides, glicósidos, saponinas, taninos and terpenoides. En mayor porcentaje se encuentran α -Gingiberene (20,57%), β -Seiquphellandrene (12,71%), α -Curcumen (11,27%), entre otros. Además, contiene Zingiberone (42,18%), Gingerol (10,43%), β -Eudesmol (2,05%). Compuestos como el gingerol, shogaol, gingerenona, le dan la propiedad antimicrobiana al jengibre, dando resultados de inhibición del crecimiento bacteriano muy similares al antibiótico amoxicilina.^{28,29,30}

La resistencia a las drogas está aumentando en todo el mundo y se considera como un principal culpable en el fracaso del tratamiento. El uso de antibióticos contra bacterias es un modo eficaz de tratamiento, pero también causa complicaciones adversas ante tan sombrío panorama de efectos adversos al medicamento se comienza el estudio de la medicina alternativa adonde a través de la fitoterapia encontramos múltiples vegetales con efecto antibacteriano, dentro de estos el jengibre tiene en su composición química al 6-gingerol y 12-shagerol aislado del rizoma de *Zingiber officinale* como los metabolitos con mayor actividad antibacteriana sobre patógenos gram positivos y gram negativos lo que le confiere al jengibre como una de las plantas con altas propiedades terapéuticas.³¹

Las quinolonas fueron descubiertas a inicio de los años 60, la primera quinolona aislada fue el ácido nalidixico. Desde 1997 se logró clasificar a las quinolonas por generaciones, coincidiendo con su época de aparición se establecieron cuatro generaciones. La estructura química que poseen las quinolonas fluoradas y no fluoradas, tiene en común el 4- oxo-1,4-dihidroquioleina, con un nucleo central de 7-piperazino-4-quinolona, asi cuna do se agrega a esta estructura química 1,2,3 o 4 atomos de fluor se denominaran 4-fluroquinolonas. Ciprofloxacino es una quinolona que pertenece a la segunda generación, el sitio de acción es variado según el tipo e patógeno, en las cepas gram (-) actua sobre ADN girasa, empero el as cepas gram (+) actua sobre la topoisomerasa IV. Estas dos proteínas (ADN girasa y topoisomerasa IV) alteran al material genético (ADN)

introduciendo ADN de doble cadenas para formar un supere lise con una previa escisión de las cadenas de ADN.³²

Ciprofloxacino tiene una biodisponibilidad del 50% mediante el tracto gastrointestinal, así mismo la concentración pico a nivel plasmático alcanza a las 3 horas y los alimentos no reducen su absorción. El espectro antibacteriano de ciprofloxacino es amplio, cubriendo en su gran mayoría cepas Gram negativas.³³

1.4 Formulación del problema

¿Tiene efecto antibacteriano In vitro, el extracto etanólico del rizoma de *Zingiber officinale* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Ciprofloxacino?

1.5 Justificación del estudio

Las enfermedades ocasionadas por *Staphylococcus aureus*, infecciones e intoxicaciones, pueden comprometer cualquier órgano generando problemas leves a nivel tegumentario como foliculitis, impétigo hasta cuadros mortales como neumonía necrotizante, osteomielitis, bacteriemia y sepsis. Por lo que constituyen un álgido problema de salud en los diversos nosocomios de nuestro país y a nivel mundial; provocando muchas muertes sobre todo en países subdesarrollados como el nuestro. Esto es debido a que la bacteria desarrolla fácilmente mecanismos de defensa para resistir a la terapia antibiótica lo cual ha incrementado las infecciones por *S. aureus* resistente a la metilina.

El uso desmedido de antibióticos sin prescripción médica ha incrementado el desarrollo de patógenos resistentes a medicamentos de primera línea como la ciprofloxacino; promoviendo así el uso de medicamentos de segunda y tercera línea que son caros y más tóxicos; esta resistencia a antibióticos amplía la estancia hospitalaria trayendo como consecuencia: pérdida laboral, disfunción familiar y hasta la probabilidad de muerte. A nivel

social un impacto por el incremento de los costos por los pacientes atendidos.

Este panorama sombrío exige la búsqueda de otras opciones de tratamiento como la medicina alternativa o complementaria que está al alcance de la población y que produce menos efectos adversos; por lo que la presente investigación está orientada a incluir el extracto etanólico del jengibre de nuestra zona ya que los estudios previos se realizaron con otros especímenes, de los cuales no se conoce los niveles de concentración de los principios activos antibacterianos, estos pueden verse afectados por influencia del medio ambiente y su genómica. Se espera que el presente trabajo de investigación sirva para tratar diversas patologías infecciosas atribuibles al *S. aureus* así como también base para futuras investigaciones relacionadas al tema.

1.6 Hipótesis

H1: El extracto etanólico del rizoma de *Zingiber officinale* tiene efecto antibacteriano In vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Ciprofloxacino.

H0: El extracto etanólico del rizoma de *Zingiber officinale* no tiene efecto antibacteriano In vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Ciprofloxacino.

1.7 Objetivos.

1.7.1. Objetivo General

Evaluar el efecto antibacteriano In vitro del extracto etanólico del rizoma de *Zingiber officinale* a diferentes concentraciones sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Ciprofloxacino.

1.7.2. Objetivos Específicos

- Medir el halo de inhibición de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 debido al extracto etanólico del rizoma de *Zingiber officinale* “jengibre” a concentraciones del 100%, 75%, 50% y 25%, in vitro.
- Medir el halo de inhibición de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 debido al Ciprofloxacino, in vitro.
- Determinar la eficacia antibacteriana In vitro del extracto etanólico del rizoma del *Zingiber officinale* comparado con el de Ciprofloxacino sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MÉTODO

2.1 Diseño de investigación

Tipo de investigación: Básica.

Diseño de investigación:

Experimental, con post prueba y repeticiones múltiples.

Se consideró el esquema siguiente:

RG ₁	X ₁	O ₁
RG ₂	X ₂	O ₂
RG ₃	X ₃	O ₃
RG ₄	X ₄	O ₄
RG ₅	X ₅	O ₅
RG ₆	X ₆	O ₆

En donde:

RG₁₋₆: Grupos de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

X₁: Extracto etanólico de *Zingiber officinale* al 100%

X₂: Extracto etanólico de *Zingiber officinale* al 75%

X₃: Extracto etanólico de *Zingiber officinale* al 50%

X₄: Extracto etanólico de *Zingiber officinale* al 25%

X₅: Control negativo (DMSO)

X₆: Control positivo (ciprofloxacino)

O₁₋₆: Efecto antibacteriano (halo de inhibición).

2.2 Variables, operacionalización

Variable independiente: Agente antibacteriano

- **No farmacológico:** Extracto etanólico de *Zingiber officinale*
- **Farmacológico:** ciprofloxacino.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano

- **Eficaz:** zona de inhibición mayor que agente farmacológico.
- **No eficaz:** zona de inhibición menor que agente farmacológico.

Operacionalización de variables:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Agente antibacteriano	Agente antibacteriano no farmacológico: <i>Zingiber officinale</i> “Jengibre”. ²³ Agente antibacteriano farmacológico: Ciprofloxacino. ³³	El Jengibre fue dividido en las siguientes diluciones: 100% 75% 50% 25% Ciprofloxacino DMSO	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
V. D: Efecto antibacteriano	Se midió mediante el incremento del halo de inhibición por medio del método Kirby Bauer.	Se consideró los estándares M02- A12 ³⁴ y M100 ³⁵ del CLSI: Sensible ≥ 21 mm Intermedio 16-20 Resistente ≤ 15	Eficaz ≥ 21 mm No eficaz < 21	Cualitativa nominal

2.3 Población y muestra

Población:

Estuvo constituida por un conjunto de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 cultivados en el laboratorio bajo condiciones controladas con las respectivas diluciones de exposición.

Muestra:

Para seleccionar la muestra se aplicó la fórmula estadística para comparar dos medias y estimación de la diferencia que existe entre ellas. Se obtuvo una muestra de 16 repeticiones para cada grupo a experimentar (Anexo 01).

Unidad de análisis:

Lo constituyó cada una de las cepas cultivadas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Unidad de muestreo:

Cada placa de cultivo.

Muestreo:

Las cepas utilizadas en el estudio, se seleccionaron considerando un muestreo probabilístico de las colonias, dentro de las mismas colonias sujetas experimentación por cada grupo estudiado.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Todas las cepas de *S. aureus* ATCC 29213 con 18 a 24 horas de cultivadas.

Criterios de exclusión:

- Cultivos de cepas de *S. aureus* ATCC 29213 contaminadas.

2.4 Técnicas procedimientos e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

Técnica: consistió en la observación experimental del crecimiento de las colonias de *S. aureus* ATCC 29213.

Procedimiento:

La planta fue identificada taxonómicamente por el Herbario Antenor Orrego - HAO. (Anexo 02)

Se obtuvo el extracto etanólico de *Zingiber officinale*, mediante el método de maceración en etanol.³⁶

Se utilizó el medio de cultivo agar Muller-Hinton, para el cultivo de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, en la prueba de susceptibilidad, de acuerdo a las recomendaciones del CLSI a través del estándar M02-A12.³⁴

Se evaluó la susceptibilidad antibacteriana siguiendo las normas y procedimientos establecidos en los estándares M02-A12³⁴ y M100³⁵ del CLSI. (Anexo 3)

Instrumento:

Se utilizó una ficha de recolección de datos, elaborada para el presente estudio considerando los criterios del CLSI. (Anexo 4)

Validación y confiabilidad del instrumento

La ficha de recolección de datos fue validada por opinión de tres expertos en Microbiología. Los procedimientos para la prueba experimental son validados por el estándar M02-A12³⁴ y los valores de los halos de inhibición que determinan la sensibilidad del patógeno son validados por el estándar M100³⁵ del CLSI, que es la institución que da la confiabilidad.

2.5 Métodos de análisis de datos

Los datos obtenidos en los resultados se tabularon en el programa Microsoft Excel 2016. La información obtenida fue procesada según el programa estadístico SPSS versión 25, nuestra muestra fue <35 por lo tanto, se pudo comprobar la normalidad con la fórmula Shapiro Wilk, además se usó la prueba de Levene para probar la homogeneidad de varianzas.

2.6 Aspectos éticos

El estudio se realizó respetando los criterios de bioseguridad en el laboratorio con las personas y con el medio ambiente. Se consideró los protocolos de tratamiento de material potencialmente infeccioso y no exposición al peligro de las personas, según el “Manual de Bioseguridad en el Laboratorio” de la OMS.³⁶

III. RESULTADOS

La zona de inhibición en milímetros producidos por el ciprofloxacino y las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Zingiber officinale* se muestran en la **Tabla 1**.

Los datos recolectados de las variables estudiadas no siguen una distribución normal por lo que se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para comparar cada grupo de estudio. (**Figura 1**)

La comparación de las zonas de inhibición evidencia que la actividad inhibitoria del ciprofloxacino es significativamente mayor ($p < 0.05$) con respecto a las concentraciones al 25%, 50% y 75% del extracto etanólico de *Zingiber officinale* (**Tabla 2**)

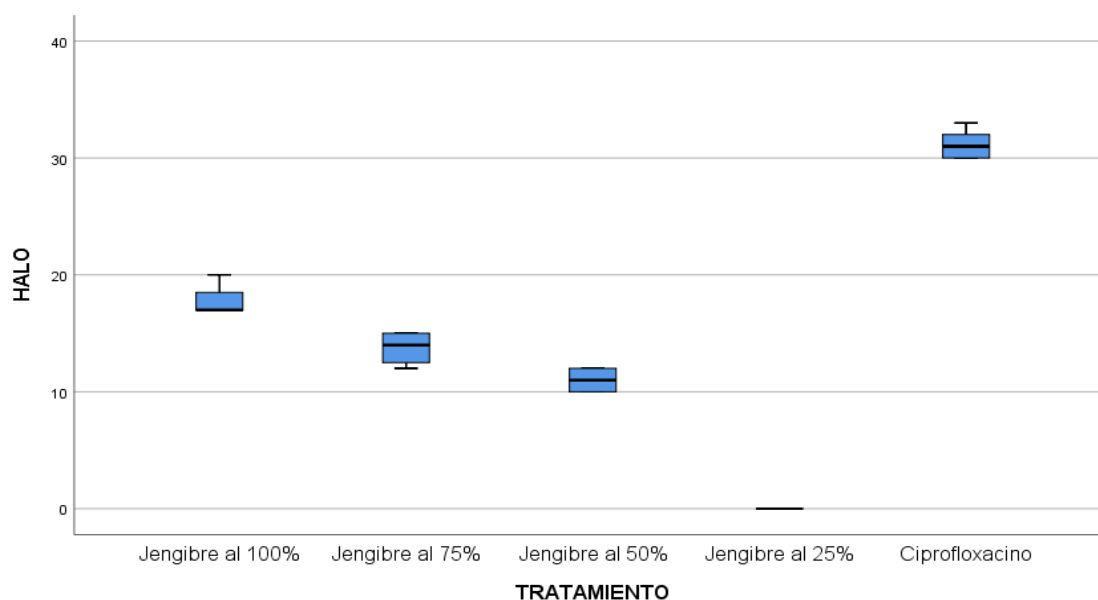
Tabla 1. Zona de inhibición (mm) producida por ciprofloxacino y el extracto etanólico de *Zingiber officinale*.

Extracto etanólico de Jengibre	N	Media	DE	Intervalo de confianza al 95%		Mín	Máx
				Lím.inferior	Lím. Superior		
100%	16	17.75	1.13	17.15	18.35	17	20
75%	16	13.63	1.20	12.98	14.27	12	15
50%	16	11.00	0.82	10.56	11.44	10	12
25%	16	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0
Ciprofloxacino	16	31.13	1.09	30.55	31.70	30	33

DE: desviación estándar; Min: Mínimo; Máx: Máximo; N: N° de repeticiones

Fuente: Datos recolectados por el autor

Se encontró que el Ciprofloxacino generó un halo de inhibición de 31.13mm seguido de jengibre al 100% de concentración con un halo promedio de 17.75mm. \pm 1.1. Además, el jengibre al 25% no presentó un efecto, encontrándose valores constantes de 0.



Fuente: Datos recolectados por el autor

Figura 1. Comparación de la zona de inhibición producida por ciprofloxacino y las concentraciones del extracto etanólico de *Zingiber officinale*

Tanto la tabla 1 como la Figura 1 muestran que el Ciprofloxacino tuvo mejor resultado; es decir mayor halo de inhibición que el jengibre y un efecto nulo al 25% de concentración.

Tabla 2. Eficacia del ciprofloxacino y el extracto etanólico de *Zingiber officinale*, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

TRATAMIENTO	NO EFICAZ		EFICAZ *	
	Recuento	% del N de fila	Recuento	% del N de fila
Jengibre al 100%	16	100.0%	0	0.0%
Jengibre al 75%	16	100.0%	0	0.0%
Jengibre al 50%	16	100.0%	0	0.0%
Jengibre al 25%	16	100.0%	0	0.0%
Ciprofloxacino	0	0.0%	16	100.0%

* Considerando como punto de corte ≥ 21 mm, según el estándar M100 del CLSI.

Se observa que el Ciprofloxacino fue eficaz en todas las muestras, podemos decir que el 100% de las placas Petri que se aplicó el Ciprofloxacino fueron eficaces. Mientras que el jengibre no logró alcanzar los estándares de eficacia que es ≥ 21 mm.

Tabla 3. Comparación del ciprofloxacino y las concentraciones del extracto etanólico de *Zingiber officinale*, mediante la prueba No Paramétrica de Kruskal-Wallis

TRATAMIENTO	N	Rango promedio	H de Kruskal-Wallis		
			Estadístico	g.l.	P
Jengibre al 100%	16	56.5	76.28	4	0.000
Jengibre al 75%	16	39.88			
Jengibre al 50%	16	25.13			
Jengibre al 25%	16	8.5			
Ciprofloxacino	16	72.5			
Total	80				

Se encontró diferencia significativa al aplicar Ciprofloxacino y jengibre en sus diferentes concentraciones. ($p=0,000$ que es $p<0.05$), evidenciándose un mayor efecto en el ciprofloxacino, seguido del jengibre al 100% de concentración.

IV. DISCUSIÓN

El extracto etanólico de *Zingiber officinale* contiene fitoquímicos que fueron extraídos por maceración de los rizomas. Éstos compuestos son los que tienen diversas propiedades y usos en la terapéutica tradicional, siendo utilizado el jengibre como calmante, tónico, diaforético, antiemético, aperitivo, antiséptico, antiespasmódico, antiflatulento, antitusivo, estimulante circulatorio, relajante de los vasos sanguíneos periféricos, entre otros. Asimismo, se le atribuye propiedad antimicrobiana contra bacterias gram positivas y gram negativas.³⁸

Respecto a la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Zingiber officinale* contra *Staphylococcus aureus*, *in vitro*, en la presente investigación encontramos que la zona máxima de inhibición en milímetros producida a diferentes concentraciones de dicho extracto, no alcanza el halo mínimo requerido a diferencia del ciprofloxacino (Tabla 1). Se observan los promedios del diámetro de los halos de inhibición, a partir de 16 repeticiones realizadas para cada una de las 4 concentraciones de extracto etanólico (100%, 75%, 50% y 25%), los cuales fueron de 17,75mm, 13,63mm, 11mm y 0mm, respectivamente. No pudiendo superar, menos igualar el halo de inhibición de 31,13mm, formado por el antibiótico ciprofloxacino (control positivo). Asimismo, la desviación estándar tiene valores bajos, que van desde 0 hasta 1,2; lo cual indica que los valores de los diámetros de los halos de inhibición no están dispersos respecto al valor promedio, tienden a ser semejantes entre sí dentro de un mismo grupo (misma concentración).

El halo de inhibición que se obtuvo con el extracto etanólico de jengibre al 100% (17.75mm) fue menor a lo establecido por el estándar M100³⁵ del Clinical and Laboratory Standards Institute (≥ 21 mm) para que *S. aureus* sea considerado sensible a este compuesto. Al caer en valores considerados como intermedios se valora también como “no eficaz”. A pesar de ello, el efecto antibacteriano de *Zingiber officinale* sobre *Staphylococcus aureus*, en el presente estudio, es mayor que otras

investigaciones, entre ellas la de Yassen et al⁵ (Irak, 2016) quien utilizó agar nutritivo e Iram et al¹⁰ (Pakistán, 2012), cuyo ensayo antimicrobiano de especias se realizó por método de difusión por Kirby –Bauer; ambos observaron un halo de inhibición de 13mm respectivamente al utilizar extracto etanólico en la dilución y aplicándolo para *Staphylococcus aureus*. De forma similar, un estudio realizado en Perú por Uribe¹⁴ (Perú, 2017) quien utilizó los métodos de macrodilución y difusión en agar, indica que el halo de inhibición del extracto etanólico de *Zingiber officinale* que obtuvo fue de 10,7mm. Inclusive, Villanueva³⁹, quién aplicó la técnica de Kirby Bauer en extracto acuoso observó, que no tiene efecto inhibitorio, no formó halos de inhibición .

La diferencia entre los resultados de esta investigación respecto a otras investigaciones se debería a diversos factores que estarían interviniendo para ello. Uno de ellos sería el porcentaje de los componentes que tienen los especímenes estudiados, por ser de procedencia diferente. Así tenemos que, en Irak, Shareef et al⁴⁰ encontraron 48 componentes en el extracto metanólico de rizomas de jengibre. En la India, Bhargava et al²⁸, analizaron el extracto etanólico de jengibre y encontraron 32 componentes. Otros investigadores^{29,30}, de otros países, también hicieron un análisis bioquímico cuantitativo del jengibre y encontraron cantidades diferentes de fitoquímicos.

Existen diversas variedades híbridas de jengibre que se cultivan en la región del sur de Asia. Sin embargo, sus características dependen del clima, suelo y condiciones locales. Los cultivos importantes son: Tipos de alto rendimiento: Maran, Karakkal, Río de Janeiro y Mahim. Menos contenido de fibra: Jamaica, Bangkok y China Thingpuri. Alta oleorresina: Emad Chemed, China, Karuppamadi y Río de Janeiro.⁴¹

En la Tabla 2, se observa la eficacia del extracto etanólico de jengibre a diferentes concentraciones y del ciprofloxacino. El efecto que produjo el extracto etanólico de *Z. officinale* es considerado no eficaz contra *S. aureus* ATCC 29213, porque los tamaños de las zonas de inhibición son menores

que el punto de corte establecido por el estándar M100 del CLSI ($\geq 21\text{mm}$), y son menores en 13.38mm en promedio alcanzados por el Ciprofloxacino.

Los datos recolectados de las variables estudiadas no siguen una distribución normal por lo que se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para comparar cada grupo de estudio. (**Figura 1**). Se observa que existe diferencias significativas entre los halos de inhibición encontrados entre los grupos de extracto etanólico al 100%, 75%, 50% y 25% con el ciprofloxacino, ya que el valor p encontrado en la Prueba de Kruskal-Wallis tiene una significancia $p < 0,05$. En general, se asume que, existe diferencia significativa en los valores del efecto antibacteriano de las 4 concentraciones del extracto etanólico de jengibre sobre *S. aureus*, lo mismo que el efecto del ciprofloxacino a $5\mu\text{g}$, respecto al efecto del extracto etanólico de jengibre.

V. CONCLUSIÓN

- El *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, tiene una susceptibilidad intermedia al extracto etanólico de *Zingiber officinale* “jengibre” al 100% de concentración, in vitro.
- El *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es sensible al Ciprofloxacino alcanzando un halo de inhibición de 31.13mm, in vitro
- El extracto etanólico de *Zingiber officinale* “jengibre” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, no es eficaz comparado con el Ciprofloxacino.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios con extractos liofilizados de esta planta, a fin de establecer la concentración mínima inhibitoria o bactericida sobre *S. aureus* y otros microorganismos.
- Se recomienda estudios sobre extracto etanólico de jengibre, considerando factores que pudieran influir en la actividad antibacteriana, tales como procedencia, edad, temperatura de deshidratación, temperatura y método de destilación del vegetal.
- Se recomienda evaluar el efecto del extracto etanólico de jengibre sobre *S. aureus* aisladas de pacientes y pruebas *in vivo*, en modelos animales o en voluntarios con infecciones superficiales, para determinar la eficacia.

VII. REFERENCIAS

1. OMS. Las diez principales causas de defunción [Internet]. Centro de Prensa de la Organización Mundial de la Salud. 24 de mayo de 2018 [Citado el 19/06/2018]. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev. Lat. Pat. Clin. 2014 [Citado: 5 de julio de 2018]; 61(1): 28-40. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
3. Bloom G, Wilkinson A, Tomson G, Awor P, Zhang X, Ahmed S. et al. Addressing Resistance To Antibiotics In Pluralistic Health Systems. STEPS Working Paper 84, Brighton: STEPS Centre; 2015 [Citado: 10 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://steps-centre.org/wp-content/uploads/AMR.pdf>
4. Kumar S y Sharma A. Medicinal properties of *Zingiber officinale* Roscoe - A Review. J Pharm Pharm SCI. Sep-oct 2014; 9(5): 124-129. [Citado: 22 de julio de 2018]. Disponible en: <http://www.iosrjournals.org/iosr-jpbs/papers/Vol9-issue5/Version-5/S0955124129.pdf>
5. Yassen D. Esmaeel A. Antibacterial activity of crude extracts of ginger (*Zingiber officinale* roscoe) on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: a study in vitro. Am J Pharm Res. 2016; 6(6): 5830-35. [Citado: 5 de julio de 2018]. Disponible en: <http://www.ejmanager.com/mnstemps/36/36-1469178089.pdf>
6. Riaz H, Begum A, Atif R, Mohy-Ud-Din Z, Yousaf H. Antimicrobial property and phytochemical study of ginger found in local area of Punjab, Pakistan. Int J Numer Anal Met. 2015; 4(7): 405-409. [Citado el 19/08/2017]. Disponible en: <http://www.banglajol.info/index.php/ICPJ/article/viewFile/23591/16153>
7. Nada K, Ahmad Z, Ghani A. Antibacterial activity of the aquatic extractor fresh, dry powder ginger, apple vinegar extract of fresh ginger and crude oil of ginger (*Zingiber officinale*) against different types of bacteria in hila city, Iraq Int J Pharmacogn. 2014; 06:975-1491. [Citado el 19/08/2017]. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/289257812_Antibacterial_activity_of_the_aquatic_extract_of_fresh_dry_powder_ginger_apple_vinegar_extract_of_fresh_ginger_and_crud_oil_of_ginger_zingiberofficinale_against_different_types_of_bacteria_in_Hilla_Cit

8. Al-Daihan S, Al-shawi A, Brnawi A, shafi R. Antibacterial activity and phytochemical screening of some medicinal plants commonly used in Saudi Arabia against selected pathogenic microorganisms. J Knot Theor Ramif. 2013; 25: 115-120. [Citado el 19/08/2017]. Disponible en: <http://sci-hub.cc/http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S101836471200050X>
9. Ali H, Rasheed A, Monjd B, Abdul B. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Crude Extracts Isolated from Zingiber Officinale by Different Solvents. Pharmaceut Anal Acta 2012, 3:9. [Citado el 19/08/2017]. Disponible en: <https://www.omicsonline.org/chemical-composition-and-antimicrobial-activity-of-the-crude-extracts-isolated-from-zingiber-officinale-by-different-solvents-2153-2435.1000184.pdf>
10. Iram G, Saeed M, Shaukat H, Aslam M, Qadir Z. Athar A. Inhibitory effect of Allium sativum and Zingiber officinale extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. Ann Clin Biochem. 2012; 11: 2-6. [Citado el 19/08/2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3418209/pdf/1476-0711-11-8.pdf>
11. Karuppiyah P, Rajaram S. Antibacterial effect of Allium sativum cloves and Zingiber officinale rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens Jpn J Trop. 2012; 2(8): 597-601. [Citado el 19/08/2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3609356/pdf/apjtb-02-08-597.pdf>
12. Azu N, Onyeagba R, Nworie O, Kalu J. Antibacterial Activity Of Allium cepa (Onions) And Zingiber officinale (Ginger) On Staphylococcus aureus And Pseudomonas aeruginosa Isolated From High Vaginal Swab. Internet J Trop Med. 2006; 3(2): 1-7. Disponible en: <http://ispub.com/IJTM/3/2/10900>

13. Pelaez L, Zavala O. Efecto del extracto etanólico de los rizomas del *Zingiber officinale* en el crecimiento de cepas patógenas del *Streptococcus pyogenes* Universidad Nacional de Trujillo ,Perú 2016.
<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1480/Pelaez%20Loya%2C%20Lizeth%20Margoth%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
14. Uribe AS. Actividad antibacteriana in vitro de los rizomas de *Zingiber officinale* (jenjibre) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Pseudomona aeruginosa*. [Tesis de grado]. Iquitos, Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana: 2017 [Citado: 25 de marzo de 2018]. Disponible en:
http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/5043/Astrid_Tesis_Titulo_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Longo D, Kasper D, Jomson J, Fousi A, Houser S, Loscalzo J, Harrison principios de medicina interna. Tomo II.18º ed México D.F: Mc Graw Hill; 2008.
16. Donarus A, Farreras P, Rozman C, Cardelach F. Medicina interna. 17º ed Barcelona, España: Elsevier Masson; 2012.
17. Balasini C, Reina R, Candela M. Infectología crítica manejo de la patología infecciosa en el paciente grave. 1º ed Buenos Aires, Argentina: Ed Médica Panamericana; 2014.
18. Noguera A, Saavedra J. Nuñez E. Infectología pediátrica avanzada. 1º ed Madrid: Ed Médica Panamericana; 2014.
19. Forbes B, Sam D, Weissfeld A, Trevio E. Diagnóstico microbiológico. 11º ed Uruguay. Ed Médica Panamericana; 2004.
20. Ammad N, Plorde J, Lawrence W. Sherris microbiologia medica. 5º ed Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2010.
21. Brooks G, Carrol K. Buyel J, Morse S. Migtzner T. Microbiología médica. 25º ed Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2010.
22. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiologia medica. 6º ed Barcelona, España: El Sevier Masson; 2009.
23. Krapp K, Longe J. Medicina alternativa. 1º ed Barcelona, España: Oceano/Ergon; 2010.
24. Cebrian J. Diccionario de plantas medicinales. 1º ed Barcelona: Integra; 2012.

25. Valera G. Las plantas medicinales y su beneficio en la salud. la ed Lima ed AIDSESEP, 1994.
26. Alzate E. Plantas medicinales. 15ª ed Medellín. Ed. Arzobispado de Medellín. 1980.
27. Arshad H Rahmani, Fahad M Al shabrmi, Salah M Aly. Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities. 2014; 6(2):125-136. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4106649/pdf/ijppp0006-0125.pdf>
28. Bhargava S, Dhabhai K, Batra A, Sharma A y Malhotra B. Zingiber Officinale: Chemical and phytochemical screening and evaluation of its antimicrobial activities. J. Chem. Pharm. Res. 2012; 4(1): 360-364. Disponible en: <http://www.jocpr.com/articles/zingiber-officinale--chemical-and-phytochemical-screening-and-evaluation-ofits-antimicrobial-activities.pdf>
29. Abd-Alrahman S, Salem-Bekhit M, Yakout S y Elhalwagy M. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Various Crude Extracts of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.). J Pure Appl Microbiol. November 2013; 7(Spl. Edn.): 309-316. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/259388827_Chemical_Composition_and_Antimicrobial_Activity_of_Various_Crude_Extracts_of_Ginger_Zingiber_officinale_Roscoe
30. Rampogu S, Baek A, Gajula R, Zeb A, Bavi R, Kumar R, et al. Ginger (*Zingiber officinale*) phytochemicals—gingerenone-A and shogaol inhibit SaHPPK: molecular docking, molecular dynamics simulations and in vitro approaches. Ann Clin Microbiol Antimicrob. April 2018; 17: 1-15. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5879566/pdf/12941_2018_Article_266.pdf
31. Garcia F, Mostacero J. Flora etnomedicinal de la región amazónica del Perú. 1º ed Trujillo, Perú; 2009.
32. Naeem A, Badshah SL, Muska M, Ahmad M y Khan K. The Current Case of Quinolones: Synthetic Approaches and Antibacterial Activity. Molecules.

March 2016; 21(4): 268. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1420-3049/21/4/268/htm>

33. Sharma P, Jain A, Jain S, Pahwa R y Yar M. Ciprofloxacin: Review on developments in synthetic, analytical, and medicinal aspects. J Enzyme Inhib Med Chem. 2010 Aug; 25(4): 577-589. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/14756360903373350#aHR0cHM6Ly93d3cudGFuZGZvbmxpbmUuY29tL2RvaS9wZGYvMTAuMzMzEwOS8xNDc1NjM2MDkwMzMzMzM1MD9uZWVkbWVkaXNzPXRydWVAQEAw>
34. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard–Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015. Disponible en: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2015-M02-A12-original.pdf>
35. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. Disponible en: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2018-M100-S28-unlocked.pdf>
36. Carrión A y García C. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. [Tesis de titulación]. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca; 2010. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>
37. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ra. Edición. Ginebra: Ediciones de la OMS; 2005. Disponible en: http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf
38. Zozoranga R. Estudio de las aplicaciones terapéuticas del jengibre. [Tesis de Título]. Cuenca, Ecuador: Universidad Católica de Cuenca; 2014 [Citado: 25 de setiembre de 2018]. Disponible en: <http://dspace.ucacue.edu.ec/bitstream/reducacue/6543/1/Estudio%20de%20las%20aplicaciones%20terap%C3%A9uticas%20del%20jengibre.pdf>
39. Villanueva M.Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Zingiber officinale* “kion”, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con gentamicina, in vitro. [Tesis de Título]. Trujillo, Perú: Universidad César

Vallejo; 2016 [Citado: 5 de setiembre de 2018]. Disponible en:
<http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/600>

40. Shareef H, Muhammed H, Hussein H y Hameed I. Antibacterial Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) Roscoe and Bioactive Chemical Analysis using Gas Chromatography Mass Spectrum. Orient. J. Chem. 2016; 32(2): 817-837. Disponible en:
http://www.orientjchem.org/pdf/vol32no2/OJC_Vol32_No2_p_817-837.pdf
41. Dhanik J, Arya N y Nand V. A Review on Zingiber officinale. JPP. 2017; 6(3): 174-184. Disponible en:
<http://www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue3/PartC/6-2-17-350.pdf>

ANEXOS

Anexo 1 TAMAÑO DE MUESTRA

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$$n = \frac{(1,96 + 0,842)^2 2(1)^2}{(21-20)^2}$$

$$n = 15,68$$

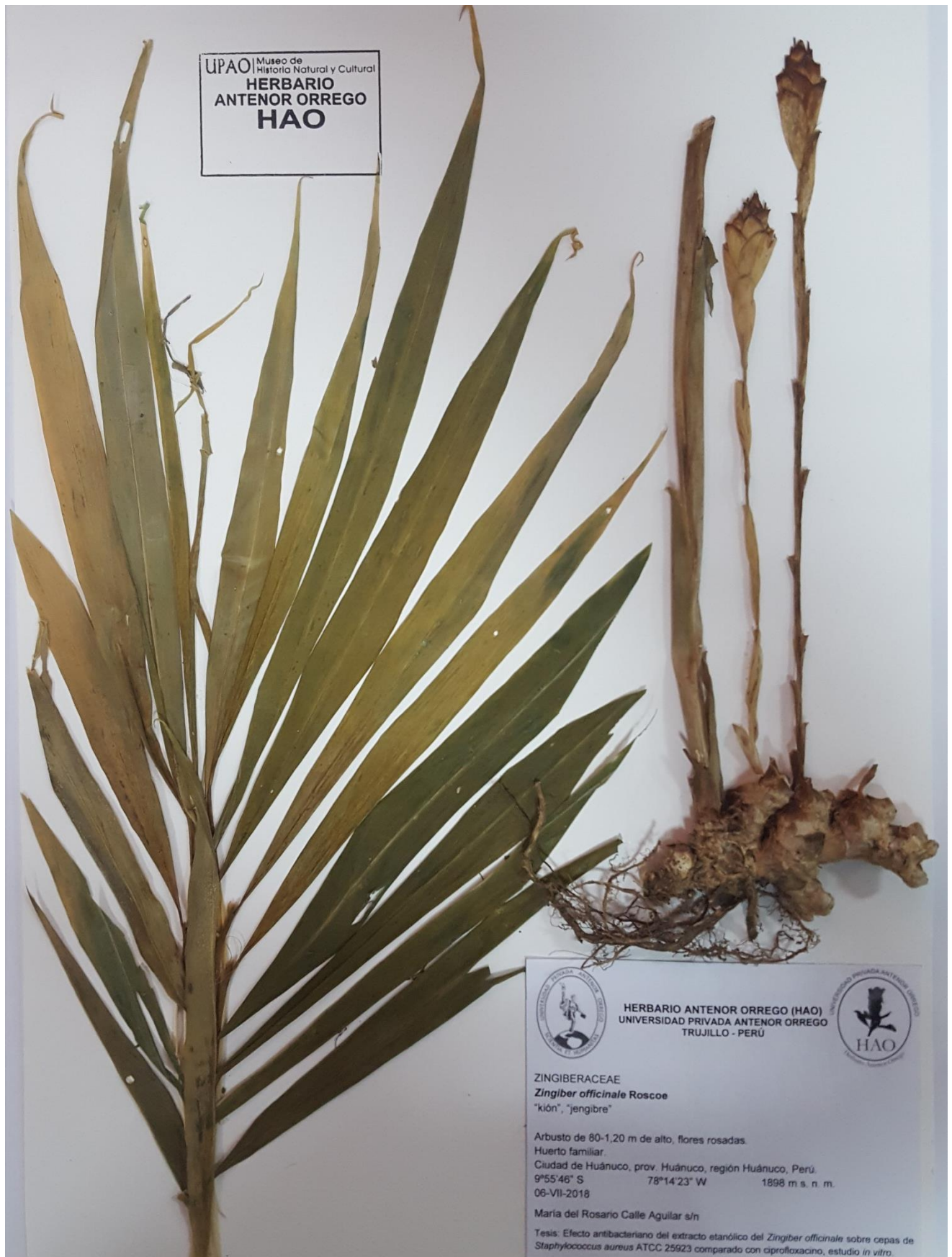
$$n = \mathbf{16 \text{ repeticiones}}$$

Dónde:

- $Z_{\alpha/2} = 1,96$ Para un nivel de confianza del 95%
- $Z_{\beta} = 0,84$ para una potencia de prueba del 80%
- $\bar{X}_1 = 21$ ³⁵
- $\bar{X}_2 = 20$ ⁶
- $\sigma^2 = 1$ ¹⁴

Anexo 2

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Zingiber officinale* “JENGIBRE”



Anexo 3

CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Zingiber officinale*



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 28-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **María del Rosario Calle Aguilar**, estudiante de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

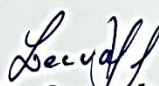
***Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae)**

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: «Efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Zingiber officinale* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino, estudio *in vitro*».

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 10 de agosto de 2018





Mg. Segundo Leiva González
Director

Museo de Historia Natural y Cultural

Anexo 4

CONSTANCIA DE LABORATORIO - EJECUCIÓN DE PROYECTO




San Jose
LABORATORIO CLINICO
Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde la Srta. CALLE AGUILAR MARÍA DEL ROSARIO, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Zingiber officinale* "jengibre" sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro", durante los días 2 al 6 de agosto de 2018, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud de la estudiante, sólo para fines académicos, a los 12 días del mes de agosto de 2018.



José Luis Callo Gurevco
BIÓLOGO - MICROBIOLOGO
C.B.P. 0201

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - ☎ 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/

Anexo 5

PROCEDIMIENTO

1. Tratamiento de la muestra vegetal

Los rizomas frescos de *Zingiber officinale* “jengibre”, procedentes de la provincia de Huánuco, se obtuvieron en el mercado La Hermelinda de Trujillo, en una cantidad de 2 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología San José de Trujillo, donde se seleccionaron los rizomas con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se picó en un procesador Oster y se llevó a un horno a 40°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).

2. Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico de *Zingiber officinale* se obtuvo por el método de maceración en alcohol etílico de 96°; para ello, se colocó en un frasco de vidrio 20 g de MS y 100 ml de alcohol etílico 96°, se cubrió el frasco con papel aluminio y se dejó a temperatura ambiente por 8 días con agitación permanente. Después, se hizo una doble filtración. Primero se filtró a través de una gasa estéril y segundo a través de un papel filtro Whatman N°41. Este filtrado, se regresó a la estufa y se evaporó por convección a temperatura ambiente, hasta una concentración de 70 µg/mL. De este modo, se obtuvo el extracto etanólico (EE) considerado al 100%; el cual, se reservó en un frasco de vidrio ámbar a 4°C hasta su utilización.

3. Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 16 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.

4. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100-S28.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml).

b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

c) Preparación de las concentraciones del EE

A partir del EE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 µL de EE y 250 µL de DMSO al tubo de 75%, 500 µL de EE y 500 µL de DMSO al tubo de 50%, y 250 µL de EE y 750 µL de DMSO al tubo de 25%.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con EE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 µL en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 µL de EE al 25% y se colocó en un disco, 10 µL de AE al 50% en otro disco, 10 µL de EE al 75% en otro disco y 10 µL de EE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con EE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Staphylococcus aureus*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con ciprofloxacino 5µg (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

f) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de EE de *Zingiber officinale* y para el ciprofloxacino. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.

Anexo 6

Tabla 1. Diámetro de halos de inhibición en cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, según agente antibacteriano.

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)						
Nº	Concentración de extracto etanólico de <i>Zingiber officinale</i>				Ciprofloxacino 5µg	DMSO
	100%	75%	50%	25%		
1	18	14	12	0	32	0
2	17	15	12	0	32	0
3	18	14	11	0	31	0
4	20	15	12	0	33	0
5	17	13	11	0	31	0
6	17	12	11	0	30	0
7	17	15	10	0	32	0
8	19	14	11	0	31	0
9	17	13	10	0	30	0
10	17	12	10	0	30	0
11	17	15	12	0	32	0
12	20	15	12	0	33	0
13	17	12	11	0	30	0
14	19	14	11	0	31	0
15	17	12	10	0	30	0
16	17	13	10	0	30	0

Anexo 7

PRUEBA DE NORMALIDAD

TRATAMIENTO		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
HALO	Jengibre al 100%	0.698	16	0.000
	Jengibre al 75%	0.846	16	0.012
	Jengibre al 50%	0.812	16	0.004
	Jengibre al 25%	---	16	---
	Ciprofloxacino	0.851	16	0.014

a. Corrección de significación de Lilliefors

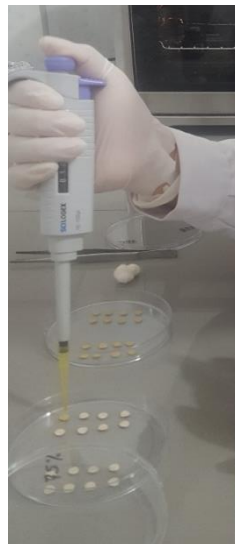
Al analizar la normalidad de los datos del estudio, se evidenció que los datos no cumplen con la condición de normalidad (valores de $p < 0.05$), teniéndose que utilizar pruebas no paramétricas para contrastar la hipótesis de investigación.

Anexo 8

1.- Preparación del extracto etanólico



2.- Cultivo



3.- Resultados: Halos de Inhibición

